«УТВЕРЖДАЮ»

Декан биологического факультета МГУ

ОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ МГУ

Академик

М.П.Кирпичников

2015 г.

Рабочая программа дисциплины (модуля)

- 1. Код и наименование дисциплины (модуля): «Принципы методов выделения и очистки биомолекул»
- 2. Уровень высшего образования подготовка научно-педагогических кадров в аспирантуре.
- 3. Направление подготовки 06.06.01 Биологические науки. Направленность (профиль) программы Биохимия.
- 4. Место дисциплины (модуля) в структуре ООП: вариативная часть ООП (осенний семестр), спецкурс по выбору (читается на кафедре биоорганической химии)
- 5. Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), соотнесенные с планируемыми результатами освоения образовательной программы (компетенциями выпускников)

Формируемые компетенции	Планируемые результаты обучения по дисциплине						
(код компетенции)	(модулю)						
УК-1: Способность к критическому анализу и оценке	Владеть:						
современных научных достижений, генерированию новых	навыками анализа методологических проблем, возникающих пр						
идей при решении исследовательских и практических задач,	, решении исследовательских и практических задач, в том числе в						
в том числе в междисциплинарных областях	междисциплинарных областях						
	Код В1 (УК-1)						
	Владеть:						
	навыками критического анализа и оценки современных научных						

	достижений и результатов деятельности по решению исследовательских и практических задач, в том числе в междисциплинарных областях Код B2 (УК-1)
УК-2 Способность проектировать и осуществлять комплексные исследования, в том числе междисциплинарные, на основе целостного системного научного мировоззрения с использованием знаний в области истории и философии науки.	Знать: методы научно-исследовательской деятельности Код 31 (УК-2)
УК-3: Готовность участвовать в работе российских и международных исследовательских коллективов по решению научных и научно-образовательных задач УК-4:	Владеть: технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2 (УК-3) Владеть:
Готовность использовать современные методы и технологии научной коммуникации на государственном и иностранном языке	навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код В1 (УК-4) Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код 32 (УК-4)
ОПК-1 Способность самостоятельно осуществлять научно- исследовательскую деятельность в соответствующей профессиональной области с использованием современных методов исследования и информационно- коммуникационных технологий	Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) приведены в Приложении.

- 6. Объем дисциплины (модуля) составляет 3 зачетных единицы, всего 108 академических часов, из которых 28 часов составляет контактная работа аспиранта с преподавателем (28 часов занятий лекционного типа) и 80 часов составляет самостоятельная работа аспиранта (выполнение домашних заданий и написание реферата).
- 7. Входные требования для освоения дисциплины (модуля), предварительные условия:

ЗНАТЬ: неорганическую и органическую химию, физическую химию, биохимию, основы молекулярной биологии, клеточной биологии и физиологии (на уровне программ специалиста/магистра), теоретические и методологические основы биологических научных исследований УМЕТЬ: вырабатывать на основе рационального анализа экспериментальных результатов свою точку зрения о физико-химических основах методов, позволяющих выделить из биологического сырья разнообразного происхождения биоорганические молекулы относящиеся к разным классам химических соединений в нативном или максимально близком к нативному состоянию, и отстаивать ее во время дискуссии со специалистами и неспециалистами; читать и реферировать научную литературу в области методов выделения биомолекул, в том числе на иностранных языках, при условии соблюдения научной этики и авторских прав.

ВЛАДЕТЬ: современными информационно-коммуникационными технологиями, иностранным языком.

- 8. Образовательные технологии: классические лекционные технологии.
- 9. Содержание дисциплины (модуля), структурированное по темам (разделам) с указанием отведенного на них количества академических часов и виды учебных занятий

Наименование и краткое содержание	Всего					В том числе				
разделов и тем дисциплины (модуля), форма промежуточной аттестации по дисциплине (модулю)	(часы	Контактная работа (работа во взаимодействии с преподавателем), часы из них Самостоятельная работа обучающегося, часы из них								
		Занятия лекционного типа	Занятия семинарского типа	Групповые консультации	Индивидуальные консультации	Учебные занятия, направленные на проведение текущего контроля успеваемости коллоквиумы, практические контрольные занятия и др)*	Всего	Выполне ние домашни х заданий	Подгот овка рефера тов и т.п.	Всего
ГОМОГЕНИЗАЦИЯ. Подготовка биологического сырья. Способы гомогенизации и применяемая аппаратура. Гомогенизация мягких тканей. Гомогенизация клеток, обладающих прочными стенками. Особенности ультразвуковой обработки биологического сырья. Требования к средам для гомогенизации. Скрытые допущения, присущие технологиям изучения внутриклеточного распределения ферментов — возможные источники артефактов.	6	2					2	4		4
ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЕ Основные понятия теории седиментации.		4					4	8		8

Параметры, влияющие на скорость							
седиментации. Плавучая плотность.							
Коэффициент и константа седиментации.							
Классификация методов центрифугирования.							
Варианты метода скоростной седиментации –							
дифференциальное центрифугирование,							
скоростное зональное центрифугирование.							
Использование метода скоростной							
седиментации в препаративных и							
аналитических целях. Изопикническое							
центрифугирование – использование для							
разделения клеток, субклеточных частиц,							
макромолекул. Характер изопикнического							
градиента, отличие от градиентов,							
используемых в зонально-скоростном							
методе. Типы центрифуг и роторов,							
используемых для препаративного и							
аналитического центрифугирования.	12						
МЕТОДЫ РАЗДЕЛЕНИЯ БИОМОЛЕКУЛ,		6			6	12	12
ОСНОВАННЫЕ НА РАЗЛИЧИЯХ В ИХ							
РАСТВОРИМОСТИ.							
Экстракция низкомолекулярных							
соединений органическими растворителями.							
Пример «зеленой химии» экстракция							
биомолекул с использованием жидкой и							
сверх-критичной углекислоты. Преимущества							
и недостатки метода экстракции углекислотой							

			 1					
по сравнению с традиционными методами экстракции. Двух- и многофазные системы водорастворимых полимеров и их использование для очистки высокомолекулярных веществ. Возможные механизмы неравномерного распределения биомолекул между различными водными фазами, возникающими в растворах водорастворимых полимеров. Представление о многофазности водных систем. Понятие о скученности макромолекул в живой клетке. Способы перевода в водорастворимое состояние периферических и интегральных мембранных белков. Солюбилизация. Принцип метода. Основные виды детергентов и их свойства. рН-фракционирование белков								
и других биомолекул. Белков и других								
высокомолекулярных соединений. Хаотропы	18							
и космотропы.			 					
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ Изобретение хроматографии М.С. Цветом. История развития хроматографии. Основной принцип хроматографии. Классификация хроматографических методов по принципам процесса разделения и по способам хроматографии. Элементы теории хроматографии. Основные параметры		8			8	18	10	28

хроматографии. Хроматографическое разрешение. Оптимизация хроматографического процесса. Понятие о теоретической тарелке. Причины уширения пиков. Способы увеличения числа теоретических тарелок хроматографической системы. Особенности высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Адсорбционная хроматография. Принцип разделения веществ. Выбор подвижной и неподвижной Распределительная фазы. хроматография. Выбор подвижной фазы. Хроматография обращенных фазах. Принцип метода. Механизмы сорбции и десорбции при ОФХ. Основные виды сорбентов. Способы элюции: изократическая элюция, градиентная элюция. Оптимизация Хроматография гидрофобных метода. взаимодействий: особенности хроматографии белков на обратнофазных сорбентах. Ионпарная хроматография в обращено-фазовом варианте.

Ионообменная хроматография. Принцип метода. Основные виды сорбентов: . аниониты и катиониты, сильные и слабые ионообменники. Электрические свойства белков и пептидов. Выбор условий

	T T		1	T		1	ı	
хроматографии. Возможная роль воды								
гидратных оболочек ионообменников и								
разделяемых веществ в осуществлении								
разделения веществ при ионообменной								
хроматографии. Способы элюции при								
ионообменной хроматографии:								
изократическая элюция, градиентная элюция								
с повышением ионной силы элюента.								
Использование градиентов рН для								
разделения веществ: хроматофокусирование.								
Особенности сорбентов и элюентов,								
используемых для хроматофокусирования.								
Гель-фильтрация. Неподвижные фазы,								
используемые для гель-фильтрации.								
Альтернативные объяснения механизма								
разделения веществ при гель фильтрации:								
ситовый принцип и принцип распределения								
между двумя несмешиваемыми водными								
фазами. Области применения гель-								
фильтрации и хроматографических сред,								
используемых для гель-фильтрации:								
определение молекулярных масс,								
обессоливание, концентрирование								
высокомолекулярных соединений.								
Аффинная (биоспецифическая)								
хроматография. Принцип метода. Условия,								
предъявляемые к неподвижным фазам и								
1		1	1	•				

способы их приготовления. Требования к лигандам, пришиваемым к неподвижной матрице. Выбор матрицы для пришивки лиганда. Методы иммобилизации лигандов на матрицах. Сорбенты, применяемые для групп-специфичной хроматографии. Металлохелатная хроматография. Сорбенты для ковалентной хроматографии. Этапы аффинной хроматографии. Влияние условий сорбции и десорбции разделяемых веществ на разрешение при аффинной хроматографии.	36							
ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ Принципы электрофоретических методов. Параметры, влияющие на разделение частиц в электрическом поле. Гель-электрофорез. Среды для гель-электрофореза и способы их получения. Принцип диск-электрофореза. Уравнение Кольрауша. Концентрирование веществ при диск-электрофорезе. Изотахофорез — электрофорез в дискретной системе электролитов. Электрофорез в полиакриламидном геле в нативных условиях и в присутствии додецилсульфата натрия. График Фергюссона. Принцип и возможности метода		8			8	18	10	28

Итого	108	28			28	60	20	80
Промежуточная аттестация - зачет								
методами электрофореза. Понятие об электроэндоосмосе. Капиллярный электрофорез и его варианты — капиллярный зональный электрофорез, мицеллярная электрокинетическая хроматография. Роль структурирования воды для осуществления капиллярного электрофореза. Изоэлектрическое фокусирование. Принципы и возможности методов. Свойства амфолитов. Двумерный ИЭФ-ЭФ.	36							
электрофореза в присутствии додецилсульфата натрия. Электрофорез в градиенте концентрации геля. Электрофорез в импульсных электрических полях. Особенности разделения нуклеиновых кислот								

^{10.} Учебно-методические материалы для самостоятельной работы аспирантов. Конспекты лекций, аудио- и видеозаписи лекций, файлы презентаций лекций, основная и дополнительная учебная литература (см. п.11)

11. Ресурсное обеспечение:

Основная литература

- 1. В.Л. Воейков, П.Д. Решетов., И.Р. Набиев и др. Физико-химические методы исследования биополимеров и низкомолекулярных биорегуляторов. Под ред. акад. В.Т. Иванова. М. Наука, 1992.
- 2. Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование. М. Наука., 1981. 288 с.
- 3. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. М., Наука, 1985, 536 с.
- 4. Скоупс Р. Методы очистки белков. М., Мир. 1985

Дополнительная литература

- 1. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии. Ред. К. Уилсон и Дж. Уолкер. Москва, БИНОМ. Лаборатория знания. 2013
- 2. Bruce Campbell. Cell Disruption: Breaking the Mould: An Overview of Yeast and Bacteria High-Pressure Cell Disruption International Labmate. Интернет-ссылка: http://www.il-biosystems.de/fileadmin/Produkt-PDFs/cs_uebersichtsartikel2004.pdf
- 3. Векшин Н.Л. Способ изготовления безнитритных колбасных изделий (Патент RU 2311047). Интернет-ссылка: http://www.findpatent.ru/patent/231/2311047.html
- 4. Hopkins T. Cell Disrupters: A Review. A review covering apparatus and techniques of cell disruption. 2014. Internet-resource: http://www.biospec.com/laboratory_cell_disrupters/
- 5. McKenzie L.C. et al. Green chemical processing in the teaching laboratory: a convenient liquid CO2 extraction of natural products. Green Chem.6, 2004, 6, 355-358.
- 6. Презентация: Innovative Techniques and Alternative Solvents as Tools for Green Extraction of Natural Products http://www.icsm.fr/Local/icsm/files/416/FC_RECYCLING_12-02-2015.pdf
 Isaaq H.J. A decade of capillary electrophoresis. A Review. 2000 Jun. 21(10) 1921-39. Интернет-ссылка: http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1522-2683(20000601)21:10%3C1921::AID-ELPS1921%3E3.0.CO;2-Y/epdf
- 7. Двумерный электрофорез: 2D-Electrophoresis. GE Handbook. Интернет-ссылка: http://www.gelifesciences.com/gehcls_images/GELS/Related%20Content/Files/1335426794335/litdoc80642960_20141229011805.pdf

Перечень ресурсов информационно-телекоммуникационной сети «Интернет»:

Подборка брошюр по широкому спектру хроматографических методов

http://www.gelifesciences.com/webapp/wcs/stores/servlet/catalog/en/GELifeSciences/applications/chromatography/

Учебник по электрофорезу белков: http://info2.gbiosciences.com/complete-protein-electrophoresis-handbook

Описание материально-технической базы.

Кафедра биоорганической химии биологического факультета МГУ располагает необходимым аудиторным фондом, компьютерами, проекторами и экранами, аудиоаппаратурой.

- 12. Язык преподавания: русский
- 13. Преподаватель (преподаватели): профессор кафедры биоорганической химии Воейков В.Л.

Приложение

Оценочные средства для промежуточной аттестации по дисциплине (модулю) «Транспортные АТФазы» на основе карт компетенций выпускников

РЕЗУЛЬТАТ ОБУЧЕНИЯ по дисциплине (модулю)	Ol	ЦЕНИВА О	И и ПОК НИЯ РЕЗ БУЧЕНИ е (модули	ЗУЛЬТА' ІЯ	ТА	ОЦЕНОЧНЫЕ СРЕДСТВА
	1,	2	3	4	5	
	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат,
Владеть:						зачет
навыками анализа методологических						
проблем, возникающих при решении						
исследовательских и практических задач,						
в том числе в междисциплинарных областях						
Код В1 (УК-1)						
Владеть:	0	1-29	30-59	60-89	90-100	индивидуальное собеседование, реферат,
навыками критического анализа и оценки						зачет
современных научных достижений и						
результатов деятельности по решению						
исследовательских и практических задач, в						
том числе в междисциплинарных областях						
Код В2 (УК-1)						
Знать:	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат,
методы научно-исследовательской						зачет
деятельности						
Код 31(УК-2)		1.20	20.76	60.06	00.100	
Владеть:	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат,

технологиями оценки результатов коллективной деятельности по решению научных и научно-образовательных задач, в том числе ведущейся на иностранном языке Код В2(УК-3)						зачет
Знать: стилистические особенности представления результатов научной деятельности в устной и письменной форме на государственном и иностранном языках Код 32(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Владеть: навыками анализа научных текстов на государственном и иностранном языках Код В1(УК-4)	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет
Уметь: собирать, отбирать и использовать необходимые данные и эффективно применять количественные методы их анализа	0	1-29	30-59	60-89	90-100	- индивидуальное собеседование, реферат, зачет

Фонды оценочных средств, необходимые для оценки результатов обучения

Примеры вопросов к промежуточному контролю (темы рефератов, вопросы для индивидуального собеседования):

- 1. Принципы гомогенизации для сохранения биологической активности целевого продукта
- 2. Принципиальное отличие метода зонально-скоростного центрифугирования от метода изопикнического центрифугирования.
- 3. Общие принципы «Зеленой химии». Особенности экстрации биомолекул с использованием жидкой и сверхкритичной углекислоты.
- 4. Использование двух- и многофазных систем водорастворимых полимеров для очистки высокомолекулярных биомолекул и интактных клеток. Принципы метода.
- 5. Способы перевода в водорастворимое состояние периферических и интегральных мембранных белков..
- 6. Механизмы, лежащие в основе рН-фракционирования белков, высаливания и высаживания высокомолекулярных соединений.
- 7. Основной принцип хроматографии. Открытие хроматографии М.В. Цветом
- 8. Оптимизация хроматографического процесса. Понятие о теоретической тарелке. Причины уширения пиков при хроматографии.
- 9. Адсорбционная и распределительная хроматография сходство и отличие. Особенности обратнофазной хроматографии
- 10. Принцип метода ионообменной хроматографии. Возможная роль гидратных оболочек ионнообменных смол и разделяемых веществ в хроматографическом процессе.
- 11. Принцип метода аффинной хроматографии. Разновидности аффинной хроматографии металлохелатная хроматография, групп-специфичная хроматография.

- 12. Принцип гель-электрофореза. Электрофорез в нативных и денатурирующих условиях. Использование додецилсульфата натрия при электрофорезе.
- 13. Электрофорез в импульсных электрических полях. Особенности разделения нуклеиновых кислот методом электрофореза.
- 14. Принципы метода изоэлектрического фокусирования. Свойства амфолитов для проведения ИЭФ и способы избавления от них после разделения целевых продуктов.
- 15. Изотахофокусирование. Принцип метода, сходство и отличие от метода диск-электрофореза.
- 16. Принцип метода капиллярного электрофореза и его отличие от электрофореза в гелях. Варианты капиллярного электрофореза. Роль структурирования воды для реализации принципа капиллярного электрофореза.

ПРОГРАММА зачета по спецкурсу «ПРИНЦИПЫ МЕТОДОВ ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ БИОМОЛЕКУЛ»

- 1. Гомогенизация. Способы гомогенизации. Типы гомогенизаторов. Требования к средам для гомогенизации.
- 2. Основные понятия теории центрифугирования. Параметры, влияющие на скорость седиментации. Плавучая плотность. Коэффициент и константа седиментации. Классификация методов центрифугирования. Выбор роторов для проведения центрифугирования.
- 3. Скоростная седиментация. Дифференциальное и зональное скоростное центрифугирование. Использование скоростной седиментации в аналитических и препаративных целях. Выбор и способы приготовления градиентов для зонального центрифугирования.
- 4. Изопикническое центрифугирование. Принцип метода. Преформированные и непреформированные градиенты. Выбор градиентов для изопикнического центрифугирования. Способы формирования градиентов.
- 5. Применение экстракции для выделения и очистки низкомолекулярных и высокомолекулярных соединений. Двух- и многофазные системы водорастворимых полимеров и их использование для очистки высокомолекулярных веществ.
- 6. Способы перевода в водорастворимое состояние периферических и интегральных мембранных белков. Солюбилизация. Принцип метода. Основные виды детергентов и их свойства.
- 7. Высаливание и рН-фракционирование белков. Принципы методов, их возможности и ограничения.
- 8. Основной принцип хроматографии. Классификация хроматографических методов по принципам процесса разделения и по способам хроматографии.
- 9. Элементы теории хроматографии. Основные параметры хроматографии. Хроматографическое разрешение. Оптимизация хроматографического процесса.
- 10. Понятие о теоретической тарелке. Способы увеличения числа теоретических тарелок хроматографической системы. Особенности высокоэффективной жидкостной хроматографии.
- 11. Адсорбционная хроматография. Принцип разделения веществ. Выбор подвижной и неподвижной фазы. Распределительная хроматография. Выбор подвижной фазы.
- 12. Хроматография в обращенных фазах. Принцип метода. Основные виды сорбентов. Оптимизация метода. Особенности хроматографии белков на обратнофазных сорбентах.
- 13. Ионообменная хроматография. Принцип метода. Основные виды сорбентов. Выбор условий хроматографии
- 14. Гель-фильтрация. Принцип метода. Области применения гель-фильтрации и хроматографических сред, используемых для гельфильтрации.

- 15. Аффинная хроматография. Принцип метода. Условия, предъявляемые к неподвижным фазам и способы их приготовления. . Этапы аффинной хроматографии.
- 16. Влияние условий сорбции и десорбции разделяемых веществ на разрешение при аффинной хроматографии. Групп-специфичная аффинная хроматография, ион-парная хроматография, ковалентная хроматография.
- 17. Принципы электрофоретических методов. Параметры, влияющие на разделение частиц в электрическом поле. Гель-электрофорез. Среды для гель-электрофореза и способы их получения. Принцип диск-электрофореза.
- 18. График Фергюссона. Электрофорез в полиакриламидном геле в нативных условиях и в присутствии додецилсульфата натрия. Принцип и возможности метода. Электрофорез в импульсных электрических полях.
- 19. Понятие об электроэндоосмосе. Капиллярный электрофорез и его варианты капиллярный зональный электрофорез, мицеллярная электрокинетическая хроматография.
- 20. Изотахофорез. Изоэлектрическое фокусирование. Принципы и возможности методов. Свойства амфолитов. Двумерный ИЭФ-ЭФ.

Профессор кафедры биоорганической химии Биологического факультета МГУ л.б.н.

В.Л. Воейков